

	(19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 (43) 공개일자	10-2011-0110933 2011년10월10일
(51)	Int. Cl.	(71)	출원인
	A01K 67/027 (2006.01) G01N 33/15 (2006.01)		한림대학교 산학협력단
(21)	출원번호		강원 춘천시 한림대학길 39 한림대학교
(22)	출원일자	(72)	발명자
	심사청구일자		신형철
	없음		강원도 춘천시 후평동 극동아파트 103동 102호
			이현주
			서울특별시 송파구 송파동 131-17
			(뒷면에 계속)
		(74)	대리인
			특허법인 천지

전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 배뇨 장애 동물 모델 및 그 제조방법

(57) 요약

본 발명은 배뇨 장애 동물 모델 및 그 제조방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 실험동물의 복대동맥을 결찰시키는 단계; 및 상기 결찰된 복대동맥을 재관류시키는 단계를 포함하는 배뇨 장애 동물 모델 제조방법과 상기 제조방법에 의해 제조되고, 배뇨 장애를 가지고 있는 배뇨 장애 동물 모델에 관한 것이다. 상기 실험동물은 배뇨 장애를 가지고 하지 부분의 운동능력이 저하된 실험 동물 모델로 인간의 척추 손상에 의한 배뇨 장애를 의태할 수 있는 것으로 평가되므로, 이를 토대로 배뇨 장애, 특히 척추손상에 의한 배뇨 장애에 대한 메커니즘의 연구 및 치료제 또는 치료방법의 연구가 가능할 수 있다.

대표도 - 도2



(72) 발명자

안지현

경상남도 진주시 상봉서동 화인아파트 102동 306호

유기연

강원도 춘천시 사농동 롯데캐슬더퍼스트 2동 202-403

최정훈

강원도 춘천시 후평동 포스코아파트 104동 1502호

이충현

경기도 안양시 만안구 안양6동 395-20

원무호

강원도 춘천시 신북읍 용산리 147-2

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 10033634-2009-11

부처명 지식경제부

연구관리전문기관

연구사업명 산업원천기술사업

연구과제명 자기제어형 신경조절 기술개발

기여율

주관기관 한림대학교 산학협력단

연구기간 2009년 06월 01일 ~ 2010년 05월 31일

특허청구의 범위

청구항 1

실험동물의 복대동맥을 결찰시키는 단계; 및
상기 결찰된 복대동맥을 재관류시키는 단계
를 포함하는 배뇨 장애 동물 모델 제조방법.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 결찰시키는 단계는 복대동맥을 클립을 이용하여 수행하고, 상기 재관류시키는 단계는 복대동맥을 결찰시킨 클립을 제거하는 방법으로 수행하는 것을 특징으로 하는 배뇨 장애 동물 모델 제조방법.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 복대동맥은 복대동맥의 콩팥동맥 아래쪽 부위인 것을 특징으로 하는 배뇨 장애 동물 모델 제조방법.

청구항 4

제1항에 있어서,

결찰시키는 단계 및 재관류시키는 단계는 38.2℃ 내지 39.2℃에서 수행하는 것인 배뇨 장애 동물 모델 제조방법.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 결찰시키는 단계는 13분 내지 17분 동안 수행하는 것을 특징으로 하는 배뇨 장애 동물 모델 제조방법.

청구항 6

실험동물의 복대동맥을 결찰시키는 단계;

상기 결찰된 복대동맥을 재관류시키는 단계;

상기 재관류시킨 실험동물에 배뇨 장애 치료 후보 물질을 투여하는 단계; 및

상기 배뇨 장애 치료 후보 물질 또는 상기 배뇨 장애 치료 후보 자극의 치료 효과를 측정하는 단계

를 포함하는 배뇨 장애 치료 후보 물질 또는 배뇨 장애 치료 자극을 스크리닝하는 방법.

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 배뇨 장애 치료 후보 물질 또는 상기 배뇨 장애 치료 후보 자극의 치료 효과를 측정하는 단계는 일정 기간 동안의 배뇨량 및 배뇨횟수를 측정하는 방법으로 수행하는 것인 배뇨 장애 치료 후보 물질을 스크리닝하는 방법.

청구항 8

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항의 방법에 의해 제조되고, 배뇨 장애를 가진 배뇨 장애 동물 모델.

기술 분야

[0001] 본 발명은 배뇨 장애 동물 모델 제조방법과 상기 제조방법에 의해 제조된 배뇨 장애 동물 모델에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 최근 보고에 의하면, 미국의 경우 약 30만 명이 척수 손상 질환을 가지고 있고, 매년 새롭게 1만여 건의 척수 손상이 보고되고 있다고 한다. 또한 전 세계적으로는 그 수가 80만 명에 이르며, 매년 2만5명의 척수 손상환자가 병원을 찾는다고 한다. 보고되지 않은 환자수를 합치면 미국에서만 약 127만 명의 척수손상환자가 있을 것으로 추정된다. 우리나라에서도, 전체 장애인 중의 약 7.3%에 해당하는 장애인이 척수손상 장애인인 것으로 보고되고 있다.

[0003] 일반적으로 척수손상은 흔하지 않은 상해이나 젊은 사람들에게서 많이 발생하여, 대부분 척수손상 환자가 25세 내지 44세의 연령층이고, 상기 척수손상 환자의 평균 연령은 약 26세이며, 척수손상 환자의 약 80%가 남자인 것으로 보고되어 있다.

[0004] 상기 척수손상이 있는 경우, 방광의 기능은 손상된 척수의 정도 및 위치에 따라 다양한 변화가 올 수가 있는 것으로 알려져 있다. 일 예로, 급성 척추절단증(acute spinal transection)으로 척추쇼크(spinal shock)에 빠졌을 때에 병변 하부에 이완성 마비와 함께 배뇨반사도 소실되며 요잔류(urinary retention)가 심해지고 범람성 요실금(overflow incontinence)이 나타나는 것으로 알려져 있다.

[0005] 상기 척수손상에 의한 배뇨 장애와 관련하여, 현재 배뇨 장애를 개선할 수 있는 다양한 약품들이 제시되어 있으나, 이러한 치료제는 방광근육에 분포하고 있는 수용체들의 전달을 막는 콜린억제의 성격을 지니고 있는 것으로 척수손상에 의한 배뇨 장애에 대한 치료효과가 거의 인정되지 아니할 뿐만 아니라, 구강건조증, 피부건조증, 시력이상, 변비 또는 메스꺼움 등의 부작용을 야기시킨다는 문제점이 있다.

[0006] 따라서, 현재 척수손상으로 인해 발생한 배뇨 장애에 대한 치료는 도뇨를 위한 카테터를 삽입하는 방법이 거의 유일하며, 근본적인 치료법은 전혀 제시되지 않고 있다.

[0007] 또한, 미국 Medtronic社가 배뇨 장애 치료법으로 개발한 것으로 심장 페이스 메이커와 유사한 장치를 삽입하여 천골신경(Sacral nerve)에 약한 자극을 보내는 방법(SNS, sacral nerve stimulation)을 응용한 InterStim요법이 최근 제시되었다. 그러나, 상기 InterStim을 이용한 치료에서 54%는 병원입원 또는 수술적인 중재가 필요했으며, 재 시술의 비율은 33%로 보고되었다. 또한, 이상반응으로 통증, 전극선의 위치 이동 그리고 감염 등의 문제점이 보고되었다.

[0008] 특히, 상기 InterStim요법과 같이 천골신경(Sacral nerve)에 약한 자극을 보내는 방법으로 배뇨 장애를 치료하는 방법의 경우, 자극의 패턴에 따른 효과의 차이점이 있다고 보고되었다.

[0009] 상기 보고된 결과는 기존에 보고된 천골신경에 약한 자극을 보내는 방법(SNS)만으로는 골반신경총(Pelvic plexus)이나 신경섬유 분지(分枝)들에서 효과적이며 선택적인 신경충격의 전달(impulse invasion)이 일어나지 않고 있음을 뜻하는 것으로 해석 가능하다.

[0010] 따라서, 기존에 보고된 치료법에 대한 보완 및 새로운 치료법의 개발을 위해서는 배뇨 장애와 관련된 특정 신경 신호 및 상기 신경신호와 관련된 신경부위를 확인하는 것이 요구된다. 일 예로, 몸의 양측 천골신경에 약한 자극을 주어야 하는 것이지, 전기 자극 대상을 음부신경(Pudendal nerve) 또는 천골신경 중 어느 것에 하는 것이 더 효과적인지 등에 대한 연구의 진행이 요구된다.

[0011] 상기와 같은 기전 연구를 위해서는 배뇨 장애 동물실험을 수행할 수 있는 실험 동물 모델의 개발이 시급히 요구된다. 또한, 이와 함께 천골 신경에 자극을 주는 경우, 척수 및 대뇌 전두엽을 포함한 상위 중추신경계에 어떠한 신호가 전달되고, 변화가 야기되는지에 대한 연구를 위한 실험 동물 모델의 개발이 요구된다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0012] 상기 배뇨 장애 치료와 같은 종래기술의 문제점을 해결하기, 본 발명은 인간의 배뇨 장애 및 이와 관련된 메커니즘을 의태할 수 있는 배뇨 장애 동물 모델을 제조하는 방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0013] 또한, 본 발명은 상기 제조방법에 의해 제조되고, 배뇨 장애를 가지고 있는 배뇨 장애 동물 모델을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0014] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 배뇨 장애 동물 모델을 제조하는 방법을 제공한다.

[0015] 또한, 본 발명은 상기 배뇨 장애 동물 모델을 이용하여 배뇨 장애 치료제 및/또는 치료 자극을 스크리닝하는 방법을 제공한다.

[0016] 또한, 본 발명은 상기 배뇨 장애 동물 모델을 이용하여 배뇨 장애 치료 장치를 스크리닝하는 방법에 관한 것이다.

[0017] 또한, 본 발명은 상기 배뇨 장애 동물 모델을 이용하여 배뇨 장애 치료 방법을 스크리닝하는 방법에 관한 것이다.

[0018] 또한, 본 발명은 상기 제조방법에 의해 제조되고, 배뇨 장애를 가지고 있는 배뇨 장애 동물 모델을 제공한다.

[0019] 이하, 본 발명을 보다 상세하게 설명한다.

[0020] 본 발명자들은 기존 척추손상에 의한 치료방법의 문제점을 해결하기 위하여, 척추손상에 의한 배뇨 장애와 관련된 기전에 대한 연구를 진행하기 위한 배뇨 장애 동물 모델의 개발에 관한 연구를 거듭한 결과, 실험동물의 체온을 38.4℃ 내지 39℃로 유지하면서 상기 실험동물의 복대동맥의 콩팥동맥 아래쪽 부위를 클립을 이용하여 약 15분간 결찰시킨 후, 상기 클립을 제거하여 결찰시키 복대동맥을 재관류시키는 경우, 하지 마비에 의한 배뇨 장애가 유발되면서도 상체의 운동성이 유지되고, 하지 마비를 제외하고는 건강하게 사육될 수 있으므로, 인간의 척추 손상에 의한 배뇨 장애를 의태할 수 있어서 인간의 척추 손상에 의한 배뇨 장애를 연구할 수 있는 모델을 제조할 수 있다는 것을 확인하였으며, 이를 토대로 본 발명을 완성하게 되었다.

[0021] 본 발명은 배뇨 장애 동물 모델 제조방법에 관한 것이다.

[0022] 본 명세서에 있어서, 실험동물이란 말초 동맥 질환 증상을 갖지 않은 동물을 의미한다. 상기 실험동물은 특별히 한정되는 것은 아니고, 인간을 제외한 어떠한 동물도 가능하며, 바람직하게는 포유동물일 수 있으며, 일 예로 설치류 동물일 수 있고, 보다 구체적으로 랫, 마우스, 모르모트, 햄스터, 토끼, 고양이, 개 등일 수 있다.

[0023] 상기 배뇨 장애 동물 모델이란 배뇨 장애에 의하여 일정 기간 측정된 배뇨량 및 배뇨횟수가 비정상적인 동물 모델을 의미하고, 구체적으로 척추 손상에 의한 배뇨 장애를 의태할 수 있는 실험동물일 수 있다.

[0024] 본 명세서에 있어서, 이완성 신경인성방광이란 방광이 배뇨근의 수축력을 잃어 배뇨근압이 낮아 방광내의 소변을 배출시키지 못하는 상태를 말하며, 소변이 과도하게 방광 내에 축만 됨으로써 방광이 과팽창 하면서 방광벽에 손상을 입히고, 이와 동반하여 출혈, 염증 등이 일어날 수 있는 상태를 의미한다.

[0025] 본 명세서에 있어서, 반사성 신경인성방광; 방광내압이 높고 본인의 의사와 관계없이 불수의적으로 수축하여 요실금 등의 증상을 나타내기도 하며 때때로 괄약근과 배뇨근의 조화에 이상이 생기는 상태를 의미한다.

[0026] 본 명세서에 있어서, 결찰이란 결찰술이라고도 하며, 실험동물의 혈관을 클립, 고무 밴드 또는 링 따위로 묶어 혈액 순환을 차단하는 행위 또는 그러한 수술을 의미한다.

[0027] 본 명세서에 있어서, 복강(abdominal cavity)은 복막에 의해 둘러싸여 있는 공간으로 인체에서 가장 큰 빈 공간 또는 횡경막(가로막) 아래의 배 부분의 빈 공간을 의미하고, 위로는 가로막에 의해 흉강과 구분되고 아래로는 골반부와 접하고 있으며 세로로는 척추와 복근 또는 그 밖의 근육들로 싸여 있다. 소화관의 대부분과 간·지라·이자·신장·난소 등이 복강 안에 들어 있다.

[0028] 상기 배뇨 장애 동물 모델 제조방법은 실험동물의 복대동맥을 결찰시키는 단계 및 상기 결찰된 복대동맥을 재관류시키는 단계를 포함하는 것일 수 있다.

[0029] 상기 배뇨 장애 동물 모델은 일 예로 척추 손상에 의한 배뇨 장애 동물 모델일 수 있다.

[0030] 상기 결찰시키는 단계는 복대동맥을 클립, 고무 밴드 및 링으로 이루어진 군 중에서 선택된 1종 이상을 이용하여 수행할 수 있고, 상기 재관류시키는 단계는 복대동맥을 결찰시키기 위해 사용된 클립, 고무 밴드 및 링으로 이루어진 군 중에서 선택된 1종 이상을 제거하는 방법으로 수행할 수 있다.

- [0031] 상기 복대동맥, 구체적으로 결찰되는 복대동맥의 부위는 복대동맥의 콩팥동맥 아래쪽 부위, 보다 구체적으로 복대동맥의 콩팥 동맥 바로 아래쪽 부위, 일 예로 콩팥 동맥에서 1 mm 내지 20 mm 아래쪽으로 떨어진 복대동맥 부위일 수 있다.
- [0032] 상기 결찰시키는 단계는 10분 내지 20분, 바람직하게는 13분 내지 17분 동안 수행하는 것일 수 있고, 구체적으로 상기 복대동맥을 클립, 고무 밴드 및 링으로 이루어진 군 중에서 선택된 1종 이상을 이용하여 결찰시킨 후, 10분 내지 20분, 바람직하게는 13분 내지 17분 동안 유지하는 방법으로 수행할 수 있고, 상기 13분 내지 17분이 경과된 뒤, 상기 클립, 고무 밴드 및 링으로 이루어진 군 중에서 선택된 1종 이상을 제거하여 재관류시킬 수 있다.
- [0033] 상기 결찰시키는 단계 및 재관류시키는 단계는 38.2℃ 내지 39.2℃, 바람직하게는 38.3℃ 내지 39.1℃, 더욱 바람직하게는 38.4℃ 내지 39.0℃에서 수행할 수 있다.
- [0034] 상기 복대동맥을 결찰시키는 단계는 실험동물의 복대동맥을 분리 또는 노출시키는 과정 및 상기 분리 또는 노출된 복대동맥 중, 콩팥동맥 아래 부위, 보다 구체적으로 복대동맥의 콩팥 동맥 바로 아래쪽 부위, 일 예로 콩팥 동맥에서 1 mm 내지 20 mm 아래쪽으로 떨어진 복대동맥 부위를 클립, 고무 밴드 및 링으로 이루어진 군 중에서 선택된 1종 이상을 이용하여 결찰시키는 과정을 포함하는 것일 수 있다.
- [0035] 일반적으로 척추 손상을 갖는 환자의 대부분이 하지에서 신경세포가 손상되고, 배뇨 장애, 구체적으로 배뇨가 조절되지 않는 현상이 관찰되며, 상기 본 발명의 제조방법에 의해 배뇨 장애 동물 모델 제조방법의 경우에도 척추의 여섯 번째 허리분절(Lumbar 6, L6) 밑으로 허혈이 유발되었고, 배뇨 장애가 일어남이 확인되어, 본 발명의 제조방법에 의해 제조된 동물 모델은 인간의 척추 손상에 의한 배뇨 장애를 의태할 수 있는 것으로 확인되었다.
- [0036] 상기 실험동물의 복대동맥을 분리하는 과정은 실험동물을 마취시킨 후, 실험동물의 하지, 구체적으로 복강 부위를 절개하고, 상기 절개된 부위를 통하여, 복대동맥을 분리하는 방법으로 수행할 수 있다.
- [0037] 상기 복대동맥의 결찰시키는 단계 및 재관류를 시키는 단계를 수행한 실험동물은 다시 절개된 부위를 봉합하고, 상처치료를 수행한 후, 마취에서 회복될 때까지 또는 마취에서 회복된 후 일정 시간 동안 상기 실험동물을 사육하기 위한 최적 조건 또는 상기 실험동물에 적합한 조건에서 안정을 취하게 할 수 있다.
- [0038] 또한, 본 발명은 배뇨 장애 치료 후보 물질 및/또는 치료 자극을 스크리닝하는 방법에 관한 것이다. 상기 배뇨 장애 치료 후보 물질 및/또는 치료 자극을 스크리닝하는 방법은 실험동물의 복대동맥을 결찰시키는 단계; 상기 결찰된 복대동맥을 재관류시키는 단계; 상기 재관류시킨 실험동물에 배뇨 장애 치료 후보를 투여하는 단계 또는 상기 재관류시킨 실험동물에 배뇨 장애 치료 자극을 주는 단계; 및 상기 배뇨 장애 후보 물질의 치료 효과 또는 상기 배뇨 장애 치료 자극의 치료 효과를 측정하는 단계를 포함하는 것일 수 있다.
- [0039] 또한, 본 발명은 배뇨 장애 치료 장치를 스크리닝하는 방법에 관한 것이다. 상기 배뇨 장애 치료 장치를 스크리닝하는 방법은 실험동물의 복대동맥을 결찰시키는 단계; 상기 결찰된 복대동맥을 재관류시키는 단계; 상기 재관류시킨 실험동물에 배뇨 장애 치료 장치를 이용하여 치료하는 단계; 및 상기 배뇨 장애 후보 치료 장치의 치료 효과를 측정하는 단계를 포함하는 것일 수 있다. 상기 치료 장치는 일 예로 방광 또는 배뇨 중추에 상기 배뇨 장애의 치료 효과가 있는 신경 신호 또는 자극, 일 예로 전기 자극을 줄 수 있는 장치일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0040] 또한, 본 발명은 배뇨 장애 치료 방법을 스크리닝하는 방법에 관한 것이다. 상기 배뇨 장애 치료 방법을 스크리닝하는 방법은 실험동물의 복대동맥을 결찰시키는 단계; 상기 결찰된 복대동맥을 재관류시키는 단계; 상기 재관류시킨 실험동물에 배뇨 장애 치료 장치를 이용하여 치료하는 단계; 및 상기 배뇨 장애 후보 치료 방법의 치료 효과를 측정하는 단계를 포함하는 것일 수 있다. 상기 배뇨 장애 후보 치료 방법은 배뇨 관련된 신경신호, 구체적으로 배뇨 중추 및 방광에서 확인되는 배뇨 관련 신경신호의 종류 및 신경신호의 세기를 확인하고, 상기 확인된 신경신호의 종류 및 세기에 부합되는 신경신호로 배뇨 중추 또는 방광을 자극하는 방법일 수 있다. 상기 신경신호는 전기신호일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 상기 배뇨 중추는 척수 또는 뇌일 수 있고, 상기 신경신호로 자극하는 부위는 척수 중 배뇨 관련 일 부위, 뇌 중 배뇨 관련 일 부위 또는 방광의 일 부위일 수 있다.
- [0041] 상기 배뇨 장애 후보 물질의 치료 효과를 측정하는 단계는 일정 기간 동안의 배뇨량 및 배뇨횟수를 측정하는 방법으로 수행할 수 있다.

- [0042] 상기 배뇨 장애 치료 후보 물질이란 상기 배뇨 장애 특히, 척추 손상에 의한 배뇨 장애 대한 치료효과가 있는 것으로 예상되어, 치료 효과를 측정하기 위한 실험대상으로 사용될 수 있는 모든 물질을 의미하며, 실험동물에 적용할 수 있고 치료 효과를 측정할 수 있으면 천연물질 또는 그로부터 얻어진 것이든, 인공적으로 합성된 것이든 제한되지 않고, 그 종류도 제한되지 않는다. 상기 실험동물에 적용이란 경구로 섭취시키거나 주사 등의 방법을 이용하거나 외용하는 등의 모든 방법을 의미하며, 상기 방법은 제형이나 제제의 종류에 의해서 제한되지 아니한다.
- [0043] 상기 배뇨 장애 치료 후보 물질 또는 상기 배뇨 장애 후보 치료 장치의 치료 효과를 측정하는 단계는 실험동물의 배뇨 장애를 유도한 후, 구체적으로 실험동물의 복대동맥의 결찰 및 재관류를 수행한 후, 1일 내지 60일 또는 2일 내지 50일 또는 3일 내지 30일 이내에 수행할 수 있다.
- [0044] 상기 배뇨 장애 치료 후보 물질 또는 상기 배뇨 장애 후보 치료 장치의 치료 효과를 측정하는 방법은 배뇨 장애 특히, 척추 손상에 의한 배뇨 장애를 치료하거나 경감 또는 완화하는 것으로 확인될 수 있는 여러 인자들을 측정하는 방법으로 수행할 수 있고, 구체적으로 배뇨량 및 배뇨 횟수를 통한 배뇨 장애가 실질적으로 치료 또는 완화되었는지를 확인하는 방법으로 수행할 수 있고, 배뇨 장애와 관련된 신경 부위의 신경 전달이 정상적으로 진행되었는지 여부를 당업계에 공지된 방법을 통하여 확인하는 방법으로 수행할 수 있다.
- [0045] 또한, 본 발명은 상기 제조방법에 의해 제조되고, 배뇨 장애를 가지고 있는 배뇨 장애 동물 모델에 관한 것이다. 상기 배뇨 장애 동물 모델은 구체적으로 상기 제조방법에 의해 제조되고, 하지의 운동성이 떨어지며, 배뇨 장애가 가진 배뇨 장애 동물 모델에 관한 것일 수 있다.
- [0046] 본 발명의 실험동물은 하지 마비에 의한 배뇨 장애가 유발되면서도 상체의 운동성이 유지되고, 하지 마비 및 배뇨 장애를 제외하고는 건강 상태가 유지되어, 실제 척추 손상에 의한 배뇨 장애를 가진 환자군에서 확인되는 증상과 유사하므로, 상기 실험동물에 의하면 배뇨 장애시 신경세포 및 배뇨중추에 전달되는 신경 현상의 변화를 연구할 수 있고, 배뇨 장애의 개선, 완화 또는 치료 여부에 대한 연구도 가능하므로, 상기 제조된 동물 모델은 인간의 배뇨 장애를 의태한 증상과 발병 메커니즘을 가지고 있는 것으로 확인되어, 상기 동물 모델은 척추 손상에 의한 배뇨 장애의 메커니즘 연구와 배뇨 장애의 치료법 및 치료약의 개발에 유용하게 응용될 수 있다.

발명의 효과

- [0047] 이상 살펴본 바와 같이, 본 발명을 통하여 실험동물의 복대동맥을 물리적 방법으로 결찰시킨 후, 재관류하는 방법으로 처리하여, 배뇨 장애, 구체적으로 배뇨량 및 배뇨 횟수가 정상 실험동물의 범위를 벗어나고, 하지가 마비되며, 상기 증상을 제외하고는 정상 실험동물과 거의 유사한 상태를 갖는 배뇨 장애 실험동물을 제조할 수 있고, 상기 배뇨 장애 실험동물은 인간의 척추 손상에 의한 배뇨 장애 메커니즘을 의태할 수 있어서, 인간의 배뇨 장애를 연구할 수 있는 모델로 이용될 수 있으므로, 상기 제조방법에 의해 제조된 실험동물 모델은 배뇨 장애의 메커니즘 및 이의 치료제 또는 치료방법의 연구 등과 관련하여 상기 질병과 관련된 다양한 산업에 응용될 수 있으므로, 그 산업적 효과가 매우 크다 할 것이다.

도면의 간단한 설명

- [0048] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 실험동물의 복대동맥을 분리하여 결찰시키는 과정을 나타낸 사진이다.
- 도 2는 본 발명의 일 실시예에 따라 제조된 척추 손상에 의한 배뇨 장애 동물 모델의 사진이다.
- 도 3은 본 발명의 일 실시예에 따라 제조된 척추 손상에 의한 배뇨 장애 동물 모델의 사진이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0049] 이하, 본 발명의 바람직한 실시예를 기재한다. 하기의 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐 본 발명의 권리범위가 하기 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0050] 실시예 1: 실험동물 및 사육방법

- [0051] 실험에 사용된 실험동물은 생후 15 내지 20주령된 성숙한 수컷 토끼(체중 2.0 내지 2.5 kg, New Zealand White rabbits)를 사용하였으며, 동물실험 수험과정은 한림대학교 실험동물센터법령에 명시되어 있는 동물관리보호법을 준수하였다.

- [0052] 상기 실험동물 60 마리를 오전 7시부터 오후 7시까지 빛을 가하는 일정한 명암주기 조건, 21℃ 내지 25℃의 온도 조건 및 45% 내지 65%의 상대습도 조건에서 사육하였다. 실험동물의 사료는 일반적인 펠렛 건조 사료(대한실험동물, 대한민국)를 사용하였고, 사료와 물은 상시로 섭취할 수 있게 하였다.
- [0053] **실시예 2: 배뇨 장애의 유도**
- [0054] 상기 실시예 1에서 사육한 실험동물을 마취시켜 복강 내의 복대동맥(abdominal aorta)를 노출 후, 콩팥동맥(left renal artery) 바로 아래 부위를 결찰하여 배뇨 장애를 유도하였다. 구체적인 방법은 하기와 같다.
- [0055] 우선, 상기 실험동물을 24시간 절식시킨 후, 질소와 산소가 7 : 3으로 혼합된 가스에 3% 이소플루란(isoflurane, Baxtor, USA)을 혼합한 가스를 이용하여 전신마취를 수행하였다.
- [0056] 상기의 질소와 산소 혼합가스에 2.5% 이소플루란을 혼합한 가스를 이용하여 실험동물의 마취상태를 유지하면서 실험동물에 대한 수술을 수행하였다. 상기 실험동물에 대한 수술은 다음과 같은 방법으로 수행하였다.
- [0057] 우선, 복강 부위의 털을 깎고 소독한 다음, 상기 소독한 부위를 절개하여 복강 내의 복대동맥을 노출시켰다. 상기 노출된 복대동맥의 콩팥동맥 바로 아래 부분을 동맥류 클립(aneurysm clip, Staelting, USA)을 이용하여 1분, 3분, 5분, 10분, 15분, 20분 및 30분 동안 결찰하여 배뇨 장애를 유도한 후, 클립을 제거하여 재관류(reperfusion)시켰다.
- [0058] 이 때, 각 실험군은 꼬리동맥(caudal artery)에서 혈압을 측정하여 완전한 복대동맥의 폐쇄여부를 확인하였다. 상기 뇌허혈을 유발시키는 동안 직장 내 체온계를 삽입하여 체온을 측정하였으며, 실험동물의 온도에 따라 자동으로 조절되는 온열 패드와 온열 전등을 사용하여 체온을 정상 체온인 38.4℃ 내지 39℃로 일정하게 유지시켰다. 이와 대조되는 실험군(대조군)의 경우 저 체온에서 상기 수술을 수행하였고, 상기 저 체온에서 배뇨 장애를 유발한 대조군은 체온을 36.7℃ 내지 37.3℃로 일정하게 유지시켰고, 결찰 시간은 1분, 5분, 10분, 15분, 및 20분 동안 수행하였다.
- [0059] **실시예 3: 배뇨 장애 여부의 확인을 위한 행동 실험**
- [0060] 상기 실시예 2에서 제조된 실험동물에 대해 절개된 부위를 외과적으로 봉합을 하고, 외과 상처치료를 수행한 후에, 마취에서 회복될 때까지, 28℃의 온도조건 온실에 유지시켰다.
- [0061] 상기 외과적 봉합 시점으로부터 24시간이 경과한 후, 실험 동물로부터 하지 장애를 제외한 어떠한 이상 현상도 나타나지 않는 것으로 확인하고, 상기 실시예 1의 조건으로 실험동물의 사육을 시작하여, 60일간 실험동물을 사육하였다.
- [0062] 상기 실험 조건에서 저 체온에서 배뇨 장애를 유발한 대조군의 경우 실험 동물 중에 배뇨 장애가 유도되지 아니한 실험동물이 발견되었고, 실험기간과 관련하여, 1분 통한 결찰 시킨 경우 대부분의 실험동물에서 배뇨 장애가 유도되지 아니하였으며, 3분 또는 5분 동안 결찰 시킨 경우에도 배뇨 장애가 유도되지 아니한 실험동물이 발견되었다. 한편, 30분 동안 결찰시킨 경우, 사육기간 동안 2마리의 실험동물이 폐사하였다.
- [0063] 배뇨 장애 유도 여부 및 실험동물의 운동성과 사료 섭취량 등을 고려한 결과, 15분 동안 결찰시킨 실험동물이 가장 바람직한 것으로 확인되었으며, 상기 38.4℃ 내지 39℃를 유지하며 15분 동안 결찰시켜 제조한 실험동물의 사진을 도 2 및 도 3에 나타내었다.
- [0064] 상기 도 2 및 도 3에 나타난 바와 같이, 실험동물은 건강하였으나, 하지 마비에 의한 하지의 운동성이 제한되었고, 하지 부분에서 확인되는 바와 같이 배뇨 장애로 인한 배뇨 조절이 되지 않아 배뇨가 하지 부분의 대부분에 묻어 있는 것이 확인되었다.

도면

도면1



도면2



도면3

